

令和 2 年 6 月 26 日現在

機関番号：82612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16880

研究課題名(和文)先天性感染症の分子メカニズム解明を可能にするin vitro胎盤発生モデルの構築

研究課題名(英文)Development of an in vitro placentation model to explore the molecular mechanisms of congenital infections

研究代表者

川崎 友之(Kawasaki, Tomoyuki)

国立研究開発法人国立成育医療研究センター・細胞医療研究部・リサーチアソシエイト

研究者番号：90751701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：世界で初めてゼノフリー下でヒト人工多能性幹(iPS)細胞からhCG産生トロホプラストを作製するヒト胎盤形成モデルを構築した(Lab Invest 2017)。胎盤化には必須因子がBMP4であること、その添加濃度や添加タイミング等で分化効率が変わってくることなどの知見を得ている。栄養膜合体層(STB)と栄養膜細胞層(CTB)の分化誘導に成功した。構築したヒトiPS細胞のトロホプラスト分化誘導モデルを活用し、網羅的遺伝子発現解析から新たなヒト胎盤発生バイオマーカーを2つ見いだすことに成功した(Placenta 2019)。胎盤初期発生の分子メカニズムの解明に大きく貢献することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胎盤の形成過程はブラックボックスに包まれていた。この胎盤の発生を分子レベルで解明するには新たなシステムの構築が必須である。本研究の成果により、異種成分不含で分子解析を恒常的に解析しやすい条件で、ヒト胎盤の初期発生の分子メカニズムを解明する事が可能となるバイオモデルを構築し得た。これを活用し、新たなヒト胎盤のバイオマーカーを見いだすことにも成功し本関連分野の発展に貢献する成果であった。

研究成果の概要(英文)：We have successfully developed a human placentation model to produce hCG-producing trophoblasts from human induced pluripotent stem (iPS) cells under xeno-free conditions (Lab Invest 2017). It is confirmed that BMP4 is an essential factor for placentation and that the differentiation efficiency varies depending on the concentration and timing of its addition. It succeeded in the differentiation induction of trophoblast syncytiotrophoblast layer (STB) and trophoblast cell layer (CTB). Using this developed human iPS cell trophoblast differentiation induction model, we succeeded in finding two new human placental development biomarkers by comprehensive gene expression analysis (Placenta 2019). It was possible to greatly contribute to the elucidation of the molecular mechanism of the early placental development.

研究分野：産婦人科

キーワード：iPS細胞 胎盤 分化誘導

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

ヒト胎盤発生の研究モデルが必要：胎盤は着床後胚盤胞におけるトロホブラストが子宮内膜上皮に接着し、上皮内に浸潤し基底膜を破り間質へと侵入し、子宮内膜欠損部が完全に修復され、胚盤胞と母体血管との間に交通が生じ形成されていく。胎盤は受精卵に由来する羊膜および絨毛膜と母体組織に由来する脱落膜から構成され妊娠 5 ヶ月までに基本的骨格が完成する。胎盤に起因する疾患は多数あるが、これまでの胎盤における研究は、分娩後あるいは流産後に娩出された胎盤検体を使用するかあるいは絨毛癌細胞株（非妊娠性絨毛癌由来: SCH, 妊娠性絨毛癌由来: BeWo, JEG-3, 等）を用いて行う事が多く癌細胞あるいは産後娩出された胎盤細胞を用いるため胎盤初期発生を調べる事は困難であった。

2. 研究の目的

ヒト胎盤発生系を構築し発生段階的な分子マーカーの同定を行うとともに、胎盤機能を付加したシステムであることを実証する。これまで *in vitro* 疾患モデル構築が非常に困難であった周産期領域においてヒトの胎盤分化モデルを構築し、疾患研究への新たなアプローチを提示する。これにより疾患研究が加速化するとともに治療法や診断開発が促進することを期待している。そのため、本研究では次のような段階的なアプローチで最終目標への到達を目指す。

- ① ヒト iPS 細胞からトロホブラストへの分化誘導法を確立する。
- ② 作製したトロホブラストを用いて胎盤初期の形成モデルを作製する。
- ③ 胎盤初期モデルを用いて胎盤の初期発生の分子メカニズムを解明する。
- ④ 絨毛性疾患、産科関連疾患、不育症などのメカニズムを解明する。先天性サイトメガロウイルス感染症実験も専門家と協力して行っていく。

3. 研究の方法

これまで、胎盤の形成過程はブラックボックスに包まれていた。胎盤の形成過程における分子機序には様々な遺伝子が異なる時期に複雑に関与する。この胎盤の発生を分子レベルで解明するには新たなシステムの構築が必須である。本研究はヒト iPS 細胞を分化誘導させる事によりこれまで困難であった胎盤の初期発生の分子メカニズムを解明する事が可能となり更に様々な胎盤に関連する疾患の解明・治療へと繋がる可能性がある。本研究は大きく 4 つのステージにより遂行される。

- ① ヒト iPSC からトロホブラストへの分化誘導法構築
- ② ヒト胎盤形成モデル構築
- ③ 胎盤初期発生の分子メカニズム解析
- ④ 周産期疾患メカニズム解明と創薬応用：絨毛性疾患、産科関連疾患、不育症などのメカニズムを解明（「ヒト胎盤分化モデル」による疾患研究と創薬シーズ開発）

4. 研究成果

(1) 世界で初めてゼノフリー（動物由来物質を一切使用しない条件）下でヒト人工多能性幹（iPS）細胞から hCG 産生トロホブラストを作製するヒト胎盤形成モデルを構築した（**Lab Invest 2017**）。胎盤化には必須因子が BMP4 であること、その添加濃度や添加タイミング等で分化効率が変わってくること、BMP4 の高濃度（100ng/ml）条件では細胞死を誘引してしまうことなどの知見を得ている。ヒト胎盤の分化過程で特異的に発現するマーカーの定量的発現を指標に分化誘導法の最適化を図る必要がある。これまで、栄養膜合体層（STB）と栄養膜細胞層（CTB）の分化誘導に成功した（図 1）。

(2) 構築したヒト iPS 細胞のトロホプラスト分化誘導モデルを活用し、網羅的遺伝子発現解析から新たなヒト胎盤発生バイオマーカーを 2 つ見いだすことに成功した (Placenta 2019)。胎盤初期発生の分子メカニズムの解明に大きく貢献することができた。

(3) 胎盤分化誘導モデルをさらに改良し、CMV 感染の有無を検証したところ CMV の感染 (CMV の転写) が強く示唆されるデータを得た (図 2)。今後の疾患モデルへ展開出来る重要な成果が得られた。

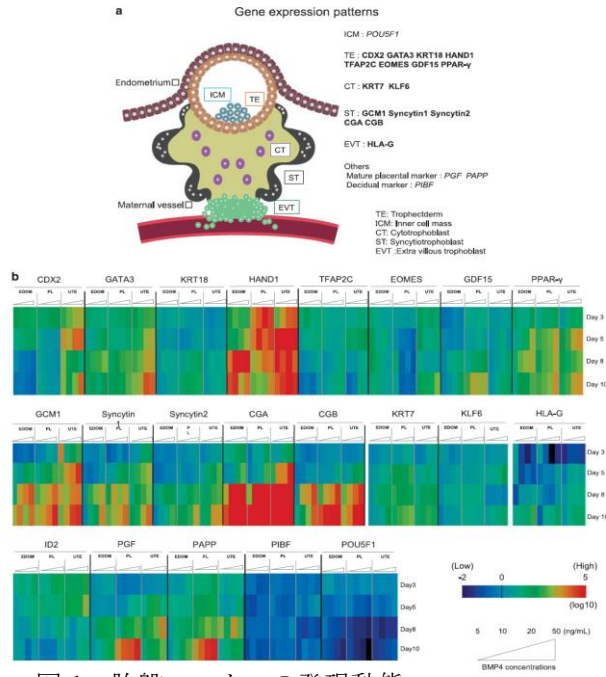


図 1 胎盤マーカーの発現動態

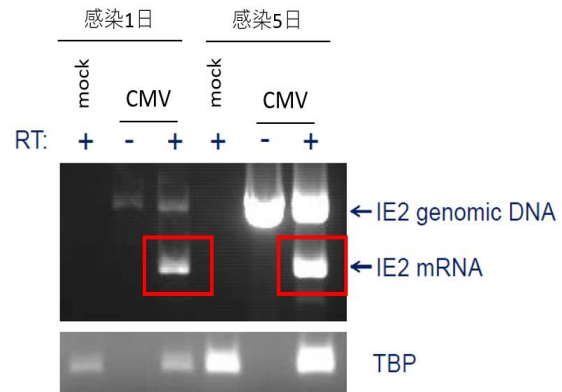


図 2 CMV 感染実証

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kojima J, Fukuda A, Taira H, Kawasaki T, Ito H, Kuji N, Isaka K, Umezawa A, Akutsu H.	4. 巻 97
2. 論文標題 Efficient production of trophoblast lineage cells from human induced pluripotent stem cells.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Lab Invest	6. 最初と最後の頁 1188-1200
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1038/labinvest.2016.159.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tsuchida Nanae, Kojima Junya, Fukuda Atsushi, Oda Mayumi, Kawasaki Tomoyuki, Ito Hiroe, Kuji Naoaki, Isaka Keiichi, Nishi Hiroataka, Umezawa Akihiro, Akutsu Hidenori	4. 巻 89
2. 論文標題 Transcriptomic features of trophoblast lineage cells derived from human induced pluripotent stem cells treated with BMP 4	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Placenta	6. 最初と最後の頁 20~32
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.placenta.2019.10.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----